Aus dem Hygienischen Institut der Universität Freiburg i. Br.
(Direktor: Geh.-Rat Prof. Dr. P. Uhlenhuth)

Über morphologische Veränderungen der Diphtheriebazillen auf Organemulsion-Agar-Nährböden

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

einer Hohen Medizinischen Fakultät

der Universität Freiburg i. Br.

vorgelegt von

Gertrud Malcherek
aus Kobelwitz (O.-S.)

Jena
Gustav Fischer
1932

Aus dem Hygienischen Institut der Universität Freiburg i. Br.
(Direktor: Geh.-Rat Prof. Dr. P. Uhlenhuth)

Über morphologische Veränderungen der Diphtheriebazillen auf Organemulsion-Agar-Nährböden

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

einer Hohen Medizinischen Fakultät

der Universität Freiburg i. Br.

vorgelegt von

Gertrud Malcherek
aus Kobelwitz (O.-S.)

Jena
Gustav Fischer
1932

Dekan: Professor Dr. Hoffmann

Referent: Geheimrat Professor Dr. Uhlenhuth

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderabdruck aus dem
Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.
I. Abteilung. Originale.
1932, Bd. 125.
Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Meinen lieben Eltern

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543109_0160

In den letzten Jahren hat die morphologische Variabilität der Mikroorganismen, besonders der pathogenen Bakterien, eine immer größer werdende Beachtung gefunden. Die Kenntnis dieser Veränderlichkeit hat auch praktische Bedeutung für die Diagnose, denn manche Mikroorganismen bleiben unter besonderen Bedingungen durchaus nicht immer unverändert. Sie zeigen vielmehr oft Variationen, manchmal als Folge des Aufenthaltes im Wirtsorganismus, häufiger unter der Wirkung besonderer Einflüsse in vitro. Auch der im Jahre 1884 von Loeffler gefundene Diphtheriebazillus ist schon seit seiner Entdeckung infolge seiner besonderen Vielgestaltigkeit und seines biologischen Verhaltens Gegenstand zahlreicher Untersuchungen geworden.

Loeffler (1884, 1887) hat schon auf die bemerkenswerten Unterschiede, die in der Kultur und im Tierversuch nach Form und Virulenz bei echten Diphtheriebazillen aufgetreten waren, hingewiesen.

Roux und Yersin (1890) haben in ihren Arbeiten ebenfalls Variationen beschrieben. L. Martin (1892) beschrieb kurze Formen des Diphtheriebazillus, den er zunächst für den Hoffmannschen Bazillus ansah; im Tierversuch erwiesen sich aber diese kurzen Formen als virulent.

Bernhardt und Paneth haben auf dem Mikrobiologentag 1913 mitgeteilt, daß es ihnen geglückt sei, experimentell echte Diphtheriebazillen in Pseudobazillen umzuwandeln. Sie erhielten die Pseudoformen aus Kulturen, die lange auf altem Agar und Bouillon gehalten worden waren. Diphtheroide Formen entstanden auch, wenn sie Diphtheriebazillen in Meerschweinchenserum brachten. Ebenso konnten sie nach intravenöser Injektion von virulenten Diphtheriebazillen aus der Milz von Meerschweinchen Bazillen herauszüchten, die ihre ursprüngliche Form verloren und pseudodiphtherieähnlichen Charakter angenommen hatten.

Dieser letzte Versuch, Pseudoformen aus Tieren zu züchten, wurde wiederholt von anderen Autoren angestellt.

So hat Killian (1924) weiterhin das Schicksal der Di-Bazillen im Organismus von Tieren verfolgt, und zwar an Meerschweinchen und Mäusen. Er infizierte diese Tiere mit virulenten Di-Bazillen (nach i.p. Einverleibung) und entnahm zu verschiedenen Zeiten — zwischen 5 Min. und 24 Std. nach der Infektion — aus der Bauchhöhle Material, welches kulturell und mikroskopisch geprüft wurde. Es zeigte sich nun, daß bei den Mäusen die Di-Bazillen viel rascher verschwanden und degenerierten als bei den Meerschweinchen. Bei den Mäusen war die Degeneration der Di-Bazillen besonders auffallend; neben echten, polgefärbten Stäbchen fanden sich im mikroskopischen Bild große plumpe Keulenformen, nach einigen Stunden zeigten sich sogar staphylokokkenartige Gebilde, die mit echten Di-Bazillen gar keine Aehnlichkeit mehr hatten. Bei seinen Fütterungsversuchen erhielt Killian ähnliche Resultate. Die an Meerschweinchen und Mäuse verfütterten Di-Bazillen konnte er als umgewandelte Formen aus den Lymphdrüsen herauszüchten; es waren außer einigen typischen Stäbchen stark aufgeblasene, xerose-, kokken- und keulenförmige Gebilde, die sich im angestellten Tierexperiment als virulent erwiesen.

Aehnliche Ergebnisse erhielt auch W. Levinthal (1926). Er infizierte Meerschweinchen, und zwar intra- und subkutan als auch intratestikulär mit echten toxischen Di-Stämmen und konnte aus dem Serum dieser Tiere umgewandelte Formen erhalten. In einer späteren Arbeit teilte Levinthal mit (1929), daß auch auf Schleimhäuten frisch getöteter Kaninchen und Meerschweinchen aus ursprünglich echten Di-Bazillen Pseudoformen des Xerosetyps entstanden. Zu diesem Versuch entnahm er Trachea, Blase und Dünndarm der Tiere, befestigte diese Organe auf Holzbrettchen mit Nadeln, die er in Petrischalen legte. Einige Organe wurden sofort nach der Präparation beimpft. Einige andere brachte er erst vor der Beimpfung in einen Dampftopf und ließ sie 5 Min. lang kochen. Nach Brutschrankaufenthalt konnte er auf einigen Schleimhäuten (Trachea, Blase) noch nach 2 Tagen üppige Koloniebildung feststellen. Die Bazillen waren auch mikroskopisch unverändert geblieben, und zwar sowohl auf den gekochten als auch auf den ungekochten Schleimhäuten. Weitere Versuche auf Trachealschleimhaut eines Meerschweinchens ergab andere Ergebnisse. Auf den ungekochten Schleimhäuten waren die Di-Bazillen bereits nach 48 Std. verschwunden. Drei Tage später aber entstanden Pseudo-Di-Bazillen. Auf den gekochten Trachealschleimhäuten bestand noch eine dicht gewachsene Reinkultur, die unveränderte Bazillen aufwies.

Frosch (1893) brachte Organe (Milz, Nieren, Lymphdrüsen, Lunge, Herzblut) von Menschen, die an Diphtherie gestorben waren, auf Nähragar und konnte nach 1—2 Tagen Brutschrankaufenthalt Di-Bazillen gewinnen. Die Bazillen wuchsen auf dem mit Blut oder Organsaft bedeckten Agar besonders üppig und zeigten manchmal veränderte Formen.

Jakobsthal (1912) konnte fast immer im Leichenblut, mehrfach auch im Blut lebender Di-Kranker Di-Bazillen nachweisen. Er konnte mehere Typen von Di-Bazillen aus ein und demselben Material herauszüchten. Die Stämme waren häufig wenig oder gar nicht virulent.

Conradi, Bierast (1912) später Koch und Gräf (1913) konnten im Harn Di-Kranker Bazillen nachweisen. Die Bazillen hatten aber meistens ihre ursprüngliche Form eingebüßt und sind auch oft avirulent geworden. In den wenigen Fällen, in denen sich typische hochvirulente Di-Bazillen im Harn fanden, verlief auch die Erkrankung besonders schwer und meist tödlich.

Grossmann und Radice (1923) brachten virulente Di-Bazillen auf Hautwunden von Menschen und fanden bei wiederholten Abimpfungen, daß die Bazillen plumper und kürzer wurden, sich nach Neisser nicht färbten und im Tierexperiment ihre Virulenz verloren hatten.

Die mannigfaltigsten Umwandlungen aus echten Di-Bazillen lassen sich auch durch Züchtung auf künstlichen Nährböden erhalten. Besonders ältere Kulturen zeigen große Neigung zur Bildung von Involutionsformen. Trautmann und Dale (1910) sahen Kürbiß- und Birnenformen neben typischen Di-Bazillen auftreten, besonders, wenn sie alte Kulturen zur Ansiedlung brachten. Gins und Fortner (1926) berichteten, daß schon beim Wechsel zwischen Loefflerserum und Levinthalagar Unterschiede in der Länge der Stäbchen und in der Farbstoffbildung auftraten. In konzentriertem Meerschweinchenserum zerfielen die Di-Bazillen zu einem formenlosen Detritus, wenn sie 3 Tage im Brutschrank gehalten wurden. Irgendwelche erkennbare Stäbchen, die an die Ursprungsform erinnerten, waren nicht vorhanden.

In trocknender Bouillon und auf anderen trocknenden Nährböden bildeten sich die Di-Bazillen in dicke, ungeformte Massen um, was Almquist und Korean (1918) mitteilten. Sie bezeichneten diese Massen als „Ruheformen". Auf zuckerhaltigen Nährböden waren die Bazillen eigentümlich geschwollen, auf Laktatbouillon entstanden bei 18° Temperatur schöne, feine Oidienketten.

Baerthlein (1913) brachte echte Di-Bazillen, die er drei Tage in Bouillon gehalten hatte, auf Glyzerin-Agarplatten und beobachtete mehrere Arten von Kolonienbildung. Er sah sie als Mutationen an, doch trat nach längerer Züchtung die ursprüngliche Ausgangsform wieder auf. Verschiedenheiten im Kolonienwachstum beschreibt auch Bernhardt (1915). Auf Agar fanden sich folgende: Große, weiße kuppenförmige; einige mit zierlicher Rosettenbildung, oft doppelt und dreifach gerändert; daneben helle zarte Kolonien mit einer zentralen Delle. So bunt wie die Kolonienbildung war auch das mikroskopische Bild. Neben gewöhnlichen, etwas großen Di-Bazillen mit Polkörnchen lagen sehr kleine dicke vielfach zugespitzte Stäbchen, die sich nach Neisser nur wenig färbten. Dann aber auch fanden sich Degenerationsformen, Keulen-, Kugel-, Kürbiß- und Flaschenformen. Brachte er diese Degenerationsformen auf Loefflerserum zurück, so waren nach 24 Std. Brutschrankaufenthalt diese Umwandlungen wieder ausgeglichen.

Daß echte Di-Bazillen sich sogar auf Loefflerserum umformen können, hat Kliewe (1927) in seiner Arbeit mitgeteilt. Ein echter tierpathogener Di-Stamm zeigte unmittelbar nach der Reinzüchtung lange, deutlich polgefärbte Stäbchen in typischer Lagerung. Nach weiteren 24 Std. zeigte derselbe Stamm plumpere und dickere Formen. Vier Tage später sah man teils sehr kurze, nicht polgefärbte, teils kokkenähnliche Gebilde. Wurden diese Formen auf frische Loeffler-Serumplatten zurückgebracht, so erhielt man nach 24 Std. die Ursprungsformen wieder. Kliewe beschrieb auch die Bildung von echten Verzweigungen, die er bei einem seiner Stämme beobachtet hatte; es waren kurze und lange, gewundene, in Knäuel liegende Fäden, von denen seitlich ein bis zwei Verzweigungen abgingen. Auch aus diesen konnte er nach mehreren Rückübertragungen auf Loefflerserum typische Di-Bazillen erhalten.

Andere Autoren berichteten ähnliche Erscheinungen. So sollen nach C. Fraenkel (1895) Eiweißkulturen (aus Hühnereiweiß) regelmäßig Verzweigungen hervorrufen. Lehmann und Neumann (1896) sahen auf Glyzerinagar und Bernheim und Folger (1896) in frischen Membranen echte Verzweigungen auftreten.

Ph. Kuhn (1931) hat ebenfalls nicht nur Umwandlungsformen aus anderen Bazillen, sondern auch aus Di-Bazillen erhalten. Er teilte mit, daß stäbchenförmige Bakterien (sogenannte B-Formen) in Kokkenformen (C-Formen) übergehen können, wenn man sie auf gewisse Nährböden bringt [Nährboden: Agar, 10 g Lab-Lemko- (Fleischextrakt), 3g Natrium-Cl, 2 g Natr. phos., 10 g Pepton (Witte), pH 7,6]. Die C-Formen wuchsen aus den Stäbchen regelmäßig heraus. Er hält die C-Form für identisch mit den Gebilden, die in der Literatur als metachromatische Körnchen, Polkörnchen usw. aufgefaßt werden. Wenn man aber die Bazillen von Agar auf Agar, in Brühe, auf Endonährböden, Lackmusmolke brachte, wurde kein Einfluß auf die C-Kultur ausgeübt. Auf Zuckernährböden und Serum wuchsen dagegen die Bazillen üppiger, zeigten aber teilweise ihre Ursprungsform.

Daß auch aus Choleravibrionen Di-ähnliche Stäbchen entstehen können, hat letzthin G. Scheepers (1931) mitgeteilt. Die Choleravibrionen zeigten, wenn man sie auf Agar brachte, im Färbepräparat ein völlig Di-ähnliches Bild. Jedes Stäbchen bzw. jeder Vibrio trug dunkelgefärbte Polkörnchen, der Bakterienleib färbte sich hellbraun. Diese Polkörnchen gingen, wenn man sie in die Bauchhöhle von Meerschweinchen brachte, verloren, ließen sich aber nach der ersten Agarpassage wieder gewinnen.

Morphologische Variationen entstanden weiter aus echten Di-Bazillen, wenn man am Nährboden nur eine geringfügige Aenderung der pH-Zahl vornahm, was Bitter, Gundel und Garcia Sancho (1926) berichteten. Kutschnarjew (1930) teilte mit, daß es ihm allerdings unregelmäßig gelang aus typischen Di-Bazillen Kokkenformen (Staphylokokken und Diplokokken) zu erhalten, wenn er Di-Bazillen auf 1proz. Peptonwasser unter Zusatz von Aluminium-, Ammonium- und Ferrum-Salzen und geringer Menge 1,2proz. Glukose brachte.

Einen kokkenförmigen Typus von Di-Bazillen hat auch Parish (1927) gesehen, der in Pferdefleischbouillon aufgetreten war. Auch dieser zeigte sich im Tierexperiment als giftig und wuchs auf Loefflerserum als echter Di-Bazillus.

W. Seiffert (1923) gelang es, aus Di-Kulturen große, leicht gestielte Kugelform mit Vakuolen und feiner Struktur, ferner kleine kokkenähnliche Kügelchen und sehr dünne, wirre Fäden nachzuweisen. In drei Kulturen traten sie regelmäßig auf nach mehreren Tagen; in einer Kultur sogar schon nach 24 Std. Er betrachtet diese Umwandlungsformen für Quellungs- und Auflösungsvorgänge der Di-Bazillen.

Im „Handbuch der pathogenen Mikroorganismen" von Kolle-Kraus-Uhlenhuth, Bd. V, I, S. 472 u. 499 beschreibt Gins (1928), daß Nährböden, die

einen Zusatz von Organbrei frisch getöteter Tiere (Kaninchen und Meerschweinchen) enthalten, echte Di-Bazillen weitgehend verändern können. Die Herstellung dieser Nährböden ist von Gins und Z. Jermoljewa (1928) angegeben worden. Die Bazillen wachsen auf diesen Nährböden üppig, in grauweißen, äußerst saftigen Kolonien, im Gegensatz zu denen, die nur auf gewöhnlichem Agar ohne Zusatz von Organbrei gezüchtet sind, denn hier waren die Kolonien fein, zart und durchscheinend. Leber- und Nierenzusatz fördern nach Gins und Jermoljewa das Wachstum besonders, Milz dagegen hemmte es. Mikroskopisch zeigen sich ebenfalls deutliche Unterschiede: die auf gewöhnlichem Agar wachsenden Kolonien zeigen die bekannte typische Di-Form. Auf Leber- und Nierenzusatz werden die Stäbchen plump und kurz, im Färbepräparat nach Neisser zeigen sie kleine Polkörperchen. Milzzusatz soll auch hier das mikroskopische Bild wenig ändern. Bringt man die umgewandelten Formen auf frisches Loefflerserum, dann treten nach 24 Std. die typischen polgefärbten Stäbchen zurück.

Eigene Untersuchungen:

A. Methodisches.

Um eine Reinkultur von Di-Bazillen zu erhalten, brachte ich Di-Bazillen so lange auf Loefflerserumplatten, bis das mikroskopische Bild ausschließlich typische Di-Stäbchen aufwies. Als ich etwa nach 4—5 Tagen von diesen Platten, die ich bei Zimmertemperatur stehen ließ, abermals ein Kontrollfärbepräparat anfertigte, waren neben typischen Di-Bazillen kurze Formen aufgetreten, die keine Polkörperchen trugen, obwohl das mikroskopische Bild 4 Tage vorher ausnahmslos polgefärbte schlanke Stäbchen zeigte. Kliewe hat schon 1927 darauf hingewiesen, daß sich Di-Stämme nach einigen Tagen selbst auf Loefflerserum umformen können. Nach Rückübertragung auf frisches Loefflerserum erhalten sie aber ihre Ursprungsformen wieder. Dieser Umwandlungsprozeß gab mir den Anlaß dazu, die Versuche von Gins und Jermoljewa auf Organbreiplatten zu wiederholen.

Für meine Untersuchung verwandte ich Nährböden, wie sie von Gins angegeben wurden. Kaninchen und Meerschweinchen wurden getötet und dabei eine möglichst vollständige Entblutung aus der freigelegten Karotis angestrebt. Leber, Nieren und Milz wurden steril entnommen, in möglichst wenig steriler NaCl-Lösung zerkleinert und zu Brei gedrückt. 10 ccm dieses Breies wurden in 100 ccm Agar suspendiert und nach kräftigem Mischen in sterile Petrischalen gegossen.

Um die Sterilität der Nährböden zu kontrollieren, stellte ich einige Platten in den Brutschrank, einige ließ ich bei Zimmertemperatur stehen. Man sah nun, daß öfters einige Platten nicht steril waren. Diese Platten wurden dann zu den Versuchen nicht verwendet. Später zeigte sich auch, daß die Platten nach wenigen Tagen nicht mehr die charakteristischen Veränderungen auslösten; deshalb mußten frische Platten zu den Versuchen verwendet werden. Um aber trotzdem die Sterilitätskontrolle ausführen zu können, wurden später die Platten nur zur Hälfte beimpft. Nur wenn dann beim Abschluß des Versuches die nicht beimpfte Seite einwandfrei war, wurde das Ergebnis verwertet. Die Stämme, die ich zur Verfügung hatte (Di-Stämme: Nr. 39, 17, 48 — Pseudo-Di-Stämme: Nr. 24, 34, 466) wurden zunächst durch mehrfache Passagen auf Loefflerserum so lange weiter gezüchtet, bis die Kontrollpräparate typische Bilder und sichere Reinkultur der Stämme ergaben. Für den Versuch wurde dann von diesen Stammkulturen eine Kolonie auf Agar und Loefflerserum abgeimpft. Nach 24stünd. Brutschrankaufenthalt entnahm ich von diesen Platten eine Oese Material und brachte es in 1 ccm sterile Kochsalzlösung. Mit dieser Aufschwemmung wurden die fertigen Organbreiplatten mit je 3 Oesen beschickt und ausgespatelt, und zwar in den späteren Versuchen nur immer die halbe Platte. Ebenso wurden zur Kontrolle mit derselben Aufschwemmung Loefflerserum- und Neutralagarplatten angelegt.

B. Versuche mit Kaninchenorganen.

Nach 24stünd. Aufenthalt im Brutschrank konnte ich folgenden Befund erheben: Auf Loefflerserum zeigte sich typisches Kolonienwachstum: zahlreiche durchscheinende, gelblichweiße, höchstens ½ mm große Kolonien; im mikroskopischen Bild (Färbung nach Neisser) fanden sich schöne, schlanke, polgefärbte Stäbchen in parallel- und y-förmiger Lagerung. Auf gewöhnlichem Agar ohne Zusatz von Agarbrei war das Wachstum der Kolonien weniger zahlreich als auf Loefflerserum; die Kolonien waren klein, etwa ¼ mm groß, hell und sehr zart. Auch hier ergab das mikroskopische Bild lange, schlanke Bazillen mit deutlichen Polkörperchen. Der Befund auf den Organbreiplatten war jedoch ein anderer. Die Platten waren mit Kolonien dicht besät. Im Vergleich zu den Kontrollplatten war die Zahl der Kolonien bedeutend größer. Auch ein Größenunterschied in der Koloniebildung war vorhanden. Während auf den Kontrollplatten die Kolonien nicht größer als ½ mm wurden, sah man auf den Organbreiplatten 1½ mm große, grau-weißliche, äußerst saftige Kolonien, die eher an Staphylokokken als an Di-Kolonien erinnerten. Das Färbepräparat nach Neisser ergab plumpe Stäbchen, die zwar noch parallel- und y-förmige Lagerung zeigten, aber eine Körnchenbildung nicht mehr aufwiesen. Brachte man eine dieser Kolonien auf frisches Loefflerserum, so wuchsen typische Di-Kolonien. Auch mikroskopisch waren schlanke, polkörperchentragende Bazillen entstanden.

Meine Versuchsergebnisse an Leber- und Nieren-Organbrei-Platten stimmten also mit denen von Gins und Jermoljewa überein, die von Schneider ebenfalls vor kurzem bestätigt worden waren (1931). Betreffs der morphologischen Veränderung auf den mit Milz hergestellten Nährböden stimmen meine Resultate jedoch mit denen Schneiders überein. Gins und Jermoljewa teilten mit, wie bereits oben erwähnt, daß Milzzusatz das Wachstum der Bazillen eher hemmt und daß das Färbepräparat keine Umwandlung erkennen läßt. Ich fand aber regelmäßig üppiges Koloniewachstum und mikroskopisch dicke, plumpe Stäbchen, ohne Körnchen.

Die Versuche mit Kaninchenorganen wurden mehrfach wiederholt. Die Resultate blieben immer die gleichen. Außer Leber, Nieren und Milz nahm ich in einem Versuch auch Gehirnbrei als Organzusatz in Agar. Auch auf diesem Nährboden war die Kolonienbildung sehr zahlreich und üppig. Die Bazillen hatten sich aber mikroskopisch wenig geändert. Nach 24 Std. sah man typische Di-Bazillen mit Körnchen. Nach 48 Std. traten jedoch neben polgefärbten Stäbchen auch kürzere und plumpere Formen auf, die körnchenlos waren.

Um zu prüfen, ob die Bildung der atypischen Formen durch Kochen des Nährbodens beeinflußt würde, analog zu dem Löwenthalschen Schleimhautversuch, brachte ich die fertig gegossenen Organbreiplatten in einen Dampftopf und ließ etwa 10—15 Min. lang heißen Dampf auf sie einwirken. Nachdem der Organbreiagar in den Platten wieder erstarrt war, wurde er in der oben bereits angegebenen Weise beimpft und 24 Std. in den Brutschrank gestellt. Es zeigte sich nun, daß das Wachstum der Kolonien etwas gehemmt war im Vergleich zu den Kontrollschalen, die nicht gekocht waren. Mikroskopisch hatten sich die Bazillen wieder in Pseudoformen umgewandelt, die Stäbchen waren nur etwas länger als gewöhnlich, hatten aber die endständigen Polkörperchen eingebüßt. Auch diese Bazillen wuchsen, wenn man sie auf frisches Loefflerserum brachte, typisch und waren auch mikroskopisch zu echten Di-Bazillen geworden. Dieser Versuch wurde noch an zwei weiteren Stämmen wiederholt. Das Ergebnis blieb immer dasselbe.

C. Befunde mit Meerschweinchenorganen.

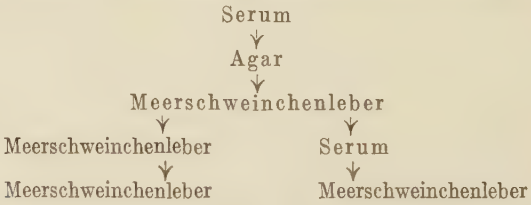
1. Versuche mit älteren Meerschweinchen.

Die Kolonien auf den Organbreiplatten wuchsen wie auf Kaninchenorganen, waren üppig, zeigten die beschriebenen gleichen Umwandlungsformen. Die Rückübertragung auf Loefflerserum ergab ebenfalls typische, echte Di-Bazillen. Auch die Kochplatten zeigten keinen nennenswerten Unterschied. Die Platten, die als Organbreizusatz Gehirn enthielten, wiesen auch keine nennenswerten Unterschiede auf. Die Koloniebildung war üppig, die Bazillen trugen Körnchen, genau wie auf Kaninchen-Gehirnbrei-Platten.

2. Versuche an jungen Meerschweinchen.

Als ich jedoch Leber und Niere eines jungen Meerschweinchens, das ein Gewicht von knapp 200 g hatte, als Zusatz nahm, ergab die Züchtung von Di-Bazillen ein anderes Resultat: Makroskopisch war sowohl im Aussehen als auch in der Zahl der Kolonien zwar kein bemerkenswerter Unterschied gegenüber den Nährböden, die Organe älterer Tiere enthielten. Die Kolonien waren etwa ½—1 mm groß, einige sogar noch größer, grauweiß, etwas matt, manche im Zentrum leicht eingedellt. Ueberraschend war jedoch das mikroskopische Bild. Es waren keine erkennbaren Stäbchen vorhanden. An Stelle der kurzen, plumpen Bazillen waren Staphylo- und Diplokokkenformen getreten, und zwar derart in Reinkultur, daß man zunächst an eine Verunreinigung dachte. Die Lagerung der Kokken zueinander entsprach aber bei genauerem Zusehen der echter Di-Bazillen. Man konnte die Y-Form oder Parallelform noch deutlich rekonstruieren. Daß es sich aber tatsächlich um echte, umgewandelte Di-Bazillen handelte, ergab die Rückübertragung auf frisches Loefflerserum. Nach 24 Std. waren die Umwandlungsformen verschwunden und das Färbepräparat zeigte wieder ausschließlich schlanke Di-Stäbchen mit positiver Polkörperchenfärbung.

Die Kokkenform erhielt ich in späteren Versuchen sehr oft, vorausgesetzt, daß ich Organe junger, noch nicht 200 g schwerer Meerschweinchen entnahm. Ich prüfte alle drei Di-Stämme, welche mir zur Verfügung standen, und zwar meist nur auf Leberagarplatten, weil die Leber als größtes Organ auch die größte Menge an Brei ergab. Es traten fast immer die Umwandlungen in Kokkenform auf, auch bei mehreren vorgenommenen Passagen:



Die Organbreiplatten wurden auch der Kochprobe unterzogen. Es trat kein wesentlicher Unterschied auf. Die Bazillen verloren ihre ursprüngliche Gestalt und wurden zu kokkenähnlichen Gebilden.

D. Versuche mit Rattenorganen.

Außer den Organen von Kaninchen und Meerschweinchen habe ich auch Leber, Nieren und Milz von ausgewachsenen zahmen Ratten als Zusatz zu meinen Nährböden genommen. Es sollte geprüft werden, wie sich die Di-

Bazillen auf Organbrei verhalten, der von Tieren stammt, die auch sonst gegen Diphtherie wenig empfindlich sind. Nach 24 Std. war zunächst auf sämtlichen Platten kein Wachstum vorhanden. Erst nach 36stünd. Brutschrankaufenthalt zeigten sich zunächst beim Stamm Nr. 39 vereinzelte, etwa 2 mm große flache weißgelbliche Kolonien. Bei Stamm Nr. 17 und 48 traten erst nach 60 Std. Brutschrankaufenthalt einige Kolonien auf. Im Färbepräparat sah man zahlreiche Stäbchen, teils mit, teils ohne Körnchen, die Mehrzahl bestand aber aus typischen Di-Bazillen. Der Zusatz von Gehirnbrei veränderte die Bazillen überhaupt nicht. Auch die Kochplatten wiesen keine Unterschiede auf.

E. Untersuchungen mit Pseudo-Diphtherie-Stämmen.

Auf meinen Organbreinährböden habe ich das morphologische Verhalten auch von Bazillen studiert, die dem Pseudo-Di-Typ angehörten. Auf Loefflerserum und Neutralagar wuchsen sie der Kolonieform nach ähnlich den echten Di-Stämmen; mikroskopisch zeigten sie keine Körnchenbildung. Wurden sie nun auf Organbreiplatten gebracht, sei es von Kaninchen, Meerschweinchen oder Ratten, dann war ihr Wachstum recht üppig, die Kolonien waren etwas kleiner und zarter als bei den echten Bazillen. Mikroskopisch aber behielten sie ihre Ursprungsform bei, sie wurden weder kürzer noch länger. Auch auf den Nährböden, die Leber junger Meerschweinchen enthielten, und bei denen bei echten Di-Stämmen fast regelmäßig Kokkenformen auftraten, blieben die Pseudoformen unverändert. Man könnte diesen Versuch vielleicht zur Differenzierung zwischen echten Di-Bazillen und Pseudoformen heranziehen.

Zusammenfassung.

1) Es gelingt sehr häufig, auf Nährböden, die einen Zusatz von Leber junger Meerschweinchen (unter 200 g) enthalten, Di-Bazillen in Kokkenform umzuwandeln.

2) Die Bildung von Pseudo- und Kokkenformen blieb unbeeinträchtigt, auch wenn die Organbreinährböden 10—15 Min. heißem Dampf ausgesetzt waren.

3) Gehirnbrei als Organzusatz ruft nur geringe Bildung von Pseudoformen hervor.

4) Auf Rattenorganen bleiben Di-Bazillen ziemlich in ihrer Ursprungsform erhalten.

5) Der Pseudo-Di-Bazillus verändert sich weder auf Loefflerserum noch auf Organbreinährböden.

Literatur.

Almquist u. Coraen, Z. Hyg. **85**, 347 (1918). — Baerthlein, Zbl. Bakter. I Ref. **57**, Beih., 89 (1913). — Bernardt, Z. Hyg. **79**, 179 (1915). — Bernardt u. Paneth, Zbl. Bakter. I Ref. **57**, Beih., 83 (1913). — Bernheim u. Folger, Zbl. Bakter. **20**, 1 (1896). — Bitter, Gundel, Garcia Sancho, Zbl. Bakter. I Orig. **97**, 132 (1926). — Fraenkel, C., Hyg. Rdsch. **5**, 349 (1895). — Frosch, Z. Hyg. **13**, 51 (1893). — Gins u. Fortner, Zbl. Bakter. I Orig. **99**, 243 (1926). — Gins u. Jermoljewa, Z. Hyg. **109**, 26 (1928). — Gins, Handb. f. pathol. Mikroorg. (Kolle, Kraus, Uhlenhuth), 3. Aufl., Bd. V, S. 502. — Gräf, Zbl. Bakter. I Ref. **57**, Beih., 78 (1913). — Grossmann u. Radice, Klin. Wschr. **1923**, Nr 46, 2126. — Jakobsthal, Zbl. Bakter. I Ref. **54**, Beih., 65 (1912). — Kliewe, Zbl. Bakter. I Orig. **101**, 10 (1927). — Killian, Z. Hyg. **102**, 262 (1924). — Kuhn u. Sternberg, Zbl. Bakter. I Orig. **121**, 114 (1931). — Kuschnarjew, Z. Immun.forschg **68**, 210

(1930). — Levinthal, Z. Hyg. **106**, 679 (1926). — Levinthal, Z. Hyg. **110**, 110 (1929). — Lehmann u. Neumann, Grundriß d. Bakt., S. 382 (1896). — Loeffler, Mitt. Reichsgesdh.amt **2**, 421 (1884). — Zbl. Bakter. **2**, 105 (1887). — Parish, Brit. J. exper. Path. **5**, 162 (1927). — Roux u. Yersin, Recherches sur la diphthérie, Ann. Inst. Pasteur (1890). — Scheepers, G., Zbl. Bakter. I Orig. **121**, 339 (1931). — Schmitz, K. E. F., Z. Hyg. **75**, 513 (1913). — Schneider, B., Zbl. Bakter. I Orig. **121**, 213 (1931). — Seiffert, W., Z. Immun.forschg **38**, 292 (1923). — Trautmann u. Dale, Zbl. Bakter. I Orig. **99**, 137 (1910).

Am Schluß der Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Privatdozent Dr. Zimmermann für die Zuweisung des Themas meinen verbindlichsten Dank auszusprechen. Ich danke ihm auch noch bestens für seine Ratschläge und für das stets rege Interesse, das er meiner Arbeit entgegengebracht hat.

Lebenslauf.

Ich, Gertrud Malcherek, wurde am 6. Juni 1906 in Kobelwitz OS. geboren, besuchte vom 6. bis zum 9. Lebensjahr die Volksschule in Kobelwitz, nachher bis zum 15. Lebensjahr die höhere Mädchenschule in Cosel OS. Hierauf besuchte ich das staatliche Gymnasium in Cosel OS., wo ich im Jahre 1926 das Abitur bestand. Ich studierte an den Universitäten Wien, Breslau und Freiburg i. Br. Medizin. Die ärztliche Vorprüfung bestand ich am 28. Juli 1929 in Breslau.